

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2004-075618

(43)Date of publication of application : 11.03.2004

(51)Int.Cl.

C07H 5/04
A61K 31/198
A61K 31/202
A61K 31/355
A61K 31/661
A61K 35/78
A61P 25/28
// A23L 1/30

(21)Application number : 2002-239143

(71)Applicant : YAIZU SUISANKAGAKU INDUSTRY CO LTD

(22)Date of filing : 20.08.2002

(72)Inventor : KIKUCHI KAZUAKI
WATANABE KAZUHIRO
MATAHIRA YOSHIHARU

(54) MEMORY LEARNING ABILITY-IMPROVING AGENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a memory learning ability-improving agent capable of effectively improving memory and leaning ability disorder in dementia, free from fear of adverse effect even when administered for a long period and being easily ingestable.

SOLUTION: The memory leaning ability-improving agent comprises a composition for oral ingestion containing at least one kind of substance selected from glucosamine or its salt and N-acetylglucosamine as an active ingredient and preferably further comprises at least one kind of substances selected from extract of ginkgo, DHA, phosphatidyl choline, tocopherol and theanine as an active ingredient.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 09.08.2005

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-75618

(P2004-75618A)

(43) 公開日 平成16年3月11日 (2004.3.11)

(51) Int. Cl. ⁷ C07H 5/04 A61K 31/198 A61K 31/202 A61K 31/355 A61K 31/661	F I C07H 5/04 A61K 31/198 A61K 31/202 A61K 31/355 A61K 31/661	テーマコード (参考) 4B018 4C057 4C086 4C088 4C206
審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 9 頁) 最終頁に続く		
(21) 出願番号 特願2002-239143 (P2002-239143) (22) 出願日 平成14年8月20日 (2002.8.20)	(71) 出願人 390033145 焼津水産化学工業株式会社 静岡県焼津市小川新町5-8-13 (74) 代理人 100086689 弁理士 松井 茂 (72) 発明者 菊地 数晃 静岡県焼津市小川新町5-8-13 焼津 水産化学工業株式会社内 (72) 発明者 渡邊 一浩 静岡県焼津市小川新町5-8-13 焼津 水産化学工業株式会社内 (72) 発明者 又平 芳春 静岡県焼津市小川新町5-8-13 焼津 水産化学工業株式会社内 Fターム (参考) 4B018 MD07 MD11 MD26 MD61 最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 記憶学習能改善剤

(57) 【要約】

【課題】痴呆症における記憶・学習能障害を効果的に改善することができ、長期間服用しても副作用の心配がなく、手軽に摂取できる記憶学習能改善剤を提供する。

【解決手段】この記憶学習能改善剤は、グルコサミン又はその塩、及びN-アセチルグルコサミンから選ばれた少なくとも1種を有効成分として含む経口摂取用の組成物からなる。更に、イチョウ葉エキス、DHA、フォスファチジルコリン、トコフェロール、及びテアニンから選ばれた少なくとも1種を有効成分として含むことが好ましい。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

グルコサミン又はその塩、及びN-アセチルグルコサミンから選ばれた少なくとも1種を有効成分として含む経口摂取用の組成物からなることを特徴とする記憶学習能改善剤。

【請求項2】

更に、イチョウ葉エキス、DHA、フォスファチジルコリン、トコフェロール、及びテアニンから選ばれた少なくとも1種を有効成分として含む、請求項1記載の記憶学習能改善剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

10

【発明の属する技術分野】

本発明は、グルコサミン、N-アセチルグルコサミン等を有効成分として含有し、経口摂取することにより、記憶・学習障害を改善することができる記憶学習能改善剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

世界一の平均寿命を有する日本では今後ますます高齢化が進み、老人性の痴呆症に対する懸念が高まっていくことは必至である。痴呆症は、脳血管性痴呆症とアルツハイマー症に大別される。脳血管性痴呆症は、脳硬塞、脳血栓、くも膜下出血など、脳血管に障害が起こり、脳組織が破壊された結果、記憶や思考に障害を起こすものである。

【0003】

20

一方、アルツハイマー病（以下、ADと略記する。）は進行性の神経変性疾患であり、その原因についてはまだ充分解明されていないが、AD患者の脳で見い出された病理上の特徴として、ヘリックス対繊維（以下、PHFと略記する。）のもつれやβ-アミロイドと称されるタンパク質の蓄積が報告されている（Glennner, G. G. et al: Biochem. Biophys. Res. Comm. 120, 885-890, 1984）。また、AD脳のPHFを構成するタウタンパク質が過度にリン酸化されていることが明らかにされており（Grundke-Iqbal, I. et al: J. Biol. Chem. 261, 6084-6089, 1986）、この現象は神経変性の病因を解釈するのに非常に重要視されている。正常脳のPHFタウタンパク質は、分子内のセリン又はスレオニン残基にO-結合型N-アセチルグルコサミンを含んでいるが、AD脳のPHFタウタンパク質ではO-結合型N-アセチルグルコサミンの量が減少し、その代わりにリン酸化が進行し、結果的にPHFのもつれが形成されると考えられている。PHFタウタンパク質のO-結合型N-アセチルグルコサミン化とリン酸化は互いに拮抗し、それらのバランスがPHFのもつれの形成に影響する。AD脳のPHF形成の正確な機構はまだ充分明らかにはなっていないが、O-結合型N-アセチルグルコサミンは、神経の形態及び機能の維持のために必須な糖残基であると言える。

30

【0004】

更に、AD脳においては、タンパク質の構造変化のみならず、多糖類の組成についても特徴的な分布がみられる。N-アセチルグルコサミン6-硫酸とガラクトースから成る多糖であるケラタン硫酸は、骨組織、角膜、大動脈などに分布する多糖であるが、脳組織にも存在し、脳の発達・老化と共にその量に変化する。Lindhilらの報告（Lindhil, B. et al: J. Biol. Chem. 271, 16991-16994, 1996）によると、AD患者の大脳皮質におけるケラタン硫酸は、正常脳に比べて半量以下にまで減少しており、神経細胞の構造、機能の維持に重要な多糖である、と述べられている。

40

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、これまでにN-アセチルグルコサミンやグルコサミンを経口投与した場合における脳機能に及ぼす影響については何ら研究されておらず、記憶・学習障害等を改善する目的で、N-アセチルグルコサミンやグルコサミンを経口的に摂取できるように調製

50

された薬剤は知られていない。

【0006】

また、ADの治療薬として用いられているアセチルコリンエステラーゼ阻害剤等の抗痴呆薬は、症状を改善したり、症状の進行を遅らせることができるものの、症状を完全に治療することはできず、また、強い副作用を有するため、長期間服用することができなかった。

【0007】

したがって、本発明の目的は、痴呆症における記憶・学習能障害を効果的に改善することができ、長期間服用しても副作用の心配がなく、手軽に摂取できる記憶学習能改善剤を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、上記問題を解決するために鋭意研究した結果、グルコサミンあるいはN-アセチルグルコサミンを経口摂取することにより、記憶・学習障害を効果的に改善できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0009】

すなわち、本発明の記憶学習能改善剤は、グルコサミン又はその塩、及びN-アセチルグルコサミンから選ばれた少なくとも1種を有効成分として含む経口摂取用の組成物からなることを特徴とする。

【0010】

この記憶学習能改善剤は、更に、イチョウ葉エキス、DHA、フォスファチジルコリン、トコフェロール、及びテアニンから選ばれた少なくとも1種を有効成分として含むことが好ましい。

【0011】

本発明の記憶学習能改善剤は、グルコサミン又はその塩、及びN-アセチルグルコサミンから選ばれた少なくとも1種を有効成分として含む経口摂取用の組成物からなるので副作用の心配がなく、非常に手軽に摂取することができ、痴呆症における記憶・学習能障害を効果的に改善することができる。更に、グルコサミンやN-アセチルグルコサミンの有する様々な生理効果も期待することができる。

【0012】

【発明の実施の形態】

本発明の記憶学習能改善剤の有効成分であるグルコサミン及びN-アセチルグルコサミン（以下、N-アセチルグルコサミンをNAGと略記する。）は、糖タンパク質、糖脂質、ムコ多糖などの生体成分中に分布する天然アミノ糖であり、工業的にはカニ、エビ、オキアミ等の甲殻類やイカの軟骨に含まれるキチンを酸及び/又は酵素により加水分解することにより調製できる。

【0013】

グルコサミンは、例えば、キチンを濃塩酸中で完全加水分解した後、分離精製することによって調製できる。本発明で用いられるグルコサミンは、遊離体であっても塩を形成していてもよく、塩の形態としては、塩酸塩、乳酸塩、酢酸塩、硫酸塩、クエン酸塩、アスコルビン酸塩、リンゴ酸塩、コハク酸塩、アジピン酸塩、グルコン酸塩、酒石酸塩等が例示できる。

【0014】

また、NAGは、例えば、特許第1822027号公報に示された方法、すなわち、キチンを酸により部分加水分解して得たN-アセチルキトオリゴ糖含有混合物を基質とし、N-アセチルキトオリゴ糖に対し、加水分解能を有する酵素を作用させることにより調製することができる。

【0015】

本発明においては、グルコサミン又はその塩、あるいはNAGを、そのまま記憶学習能改善剤として用いることもできるが、他の有効成分として、更に、イチョウ葉エキス、DHA

10

20

30

40

50

A、フォスファチジルコリン、トコフェロール、及びテアニンから選ばれた少なくとも1種を含むことが好ましい。これらの成分は、記憶学習能力の向上、脳の老化防止、痴呆症状の改善効果を有していることが知られており、グルコサミンやNAG等と併用することにより、相乗効果が期待できる。

【0016】

これらの成分の配合量は適宜設定できるが、例えば、イチョウ葉エキ스는、成人1日当たり、乾物換算で0.1～100mg摂取できるように配合することが好ましい。また、DHAは、成人1日当たり0.1～100mg摂取できるように配合することが好ましい。また、フォスファチジルコリンは、成人1日当たり0.1～100mg摂取できるように配合することが好ましい。また、トコフェロールは、成人1日当たり0.1～10mg摂取できるように配合することが好ましい。また、テアニンは、成人1日当たり0.1～100mg摂取できるように配合することが好ましい。

【0017】

本発明の記憶学習能改善剤は、上記の有効成分の他に、薬学的に許容される添加剤を適宜含むことができる。このような添加剤としては、賦形剤、ミネラル類、ビタミン類、糖類、香料、油脂、アミノ酸等が挙げられる。

【0018】

また、その製品形態は、経口摂取に適した形態であれば特に制限されず、例えば、錠剤、粉末、顆粒、溶液、カプセル剤等が挙げられる。

【0019】

本発明の記憶学習能改善剤の服用量は、成人1日当たり、グルコサミン又はその塩あるいはNAG換算で1～5,000mgが好ましく、100～1,000mgがより好ましい。なお、グルコサミン（硫酸塩）は変形性関節症に対する医薬品としてヨーロッパで使用され、米国では健康食品（サプリメント）として定着している。また、NAGは、牛乳100mL中に遊離の状態で11mg含まれており、母乳中に分泌されるミルクオリゴ糖の構成糖でもあり（Hoff, J. E. et al: J. Dairy Sci. 46, 573-574, 1963）、食経験の豊富な安全な成分であることが確認されている。

【0020】

本発明の記憶学習能改善剤は、例えば、ドリンク、ベビーフード、調味料、ドレッシング、菓子類、醗酵食品等の飲食品に配合することもできる。飲食品への配合量は、上記の服用量に基づいて設定すればよいが、通常、グルコサミン又はその塩あるいはNAG換算で0.01質量%以上が好ましく、0.1質量%以上がより好ましい。なお、グルコサミンやNAG等と併用される他の有効成分の飲食品への配合量についても、上記の摂取量に基づいて適宜設定できるが、イチョウ葉エキ스는乾物換算で0.01～10質量%、DHAは0.01～1質量%、フォスファチジルコリンは0.01～10質量%、トコフェロールは0.001～0.1質量%、テアニンは0.01～10質量%が好ましい。

【0021】

【実施例】

実施例1

NAGあるいはグルコサミン塩酸塩の経口投与による脳機能に及ぼす影響について、老化促進モデルマウス（Senescence-accelerated mouse、以下SAMとする）を用いて検討した。すなわち、4ヶ月齢の雄性SAMP8マウス（早期に老化現象が発現する近交系マウスで、学習・記憶障害の早期発現を特徴とする系統）と、対照として、雄性SAMR1マウス（老化促進を発現しない系統）を使用し、表1に示すように群分けを行い、A群とB群には標準飼料を、C群とD群には5質量%となるようにNAGあるいはグルコサミン塩酸塩を混合した飼料を8週間自由摂取させた。

【0022】

【表1】

群	系統		飼料
A	SAMR1	1 1	標準飼料
B	SAMP8	9	標準飼料
C	SAMP8	1 1	標準飼料+NAG
D	SAMP8	9	標準飼料+グルコサミン塩酸塩

【 0 0 2 3 】

摂取期間終了後、1日3回、5日間連続して、モリス水迷路（株式会社ニューロサイエンス製）を使用して逃避遊泳時間を測定した。行動解析には（V i d e o I m a g e M o t i o n A n a l y z e r A X I S - 9 0 及び A X I S - 9 0 用解析ソフト T A R G E T / 2 モリス水迷路、株式会社ニューロサイエンス製）を使用した。

【 0 0 2 4 】

モリス水迷路による学習記憶能の評価結果を図1に示した。図1から、試行1、2、3、4及び5日目における平均逃避遊泳時間は、A群で64.7、40.5、38.1、40.1及び31.2秒であった。また、B群では、測定1日目の平均逃避遊泳時間が105.7秒であり、2日目以後も、B群の逃避遊泳時間はA群よりも長く、継続して学習・記憶障害が発現していることが分かる。

【 0 0 2 5 】

一方、B群と比較して、グルコサミン塩酸塩含有飼料を与えたD群では、試行5日目における逃避時間がB群（79.5秒）よりも短縮（55.0秒）し、学習・記憶障害が若干改善される傾向が認められた。また、NAG含有飼料を与えたC群では、試行2日目以後、逃避時間が大きく短縮（B群と比較して29.6～30.8%の短縮）した。すなわち、モリス水迷路を使用した評価法により、グルコサミン塩酸塩及びNAGを経口摂取することにより、学習・記憶障害が改善されることが示唆された。特に、NAGは、グルコサミン塩酸塩よりも効果的に学習・記憶障害を改善できることが示唆された。

【 0 0 2 6 】

実施例2

実施例1と同様にして、SAMP8マウス及びSAMR1マウスをA～D群に分けて、各群に実施例1と同様の飼料を8週間与えた。

【 0 0 2 7 】

摂取期間終了後、マウスをステップスルー型受動的回避反応装置（マウス用5ch全自ステップスルー・システムMST-05M/A、室町機械株式会社製）の明室に入れ、60秒後に暗室の扉を開き、マウスが暗室に進入するまでの時間を反応潜時として測定し、これを獲得試行とした。この際、暗室には電流を流し、暗室に入ると電撃刺激が与えられることを学習させた。そして、24時間後、同様にして反応潜時を測定し、これを再生試行とした。再生試行においては電撃刺激を与えなかった。

【 0 0 2 8 】

ステップスルー型受動的回避反応装置による学習記憶能の評価結果を図2に示す。図2から、A群の反応潜時は、獲得試行時の57.9秒と比較して、再生試行時で192.4秒に増加し、獲得試行による学習効果が認められた。また、標準飼料を与えたB群の反応潜時は、獲得試行（30.8秒）と再生試行（33.0秒）で変化しないことから、学習効果は現われておらず、学習・記憶障害を発現していることが分かる。

【 0 0 2 9 】

一方、NAG含有飼料を与えたC群の反応潜時は、獲得試行時（16.7秒）よりも再生試行時（75.5秒）で4.52倍に増加した。また、グルコサミン塩酸塩含有飼料を与えたD群では、反応潜時が獲得試行時（18.7秒）と比べて再生試行時（48.2秒）で2.58倍に増加した。すなわち、グルコサミン塩酸塩及びNAGを経口摂取することにより、ステップスルー型受動的回避反応装置により評価される学習・記憶障害の発現を抑制できることが示唆された。特に、NAGは、グルコサミン塩酸塩よりも効果的に学習

・記憶障害の抑制できることが示唆された。

【0030】

実施例3

実施例1及び2のマウスの脳について、遊離型及び結合型NAGの含量を測定した。脳組織の前処理法は、文献(Shimizu, H. et al: J. Biochem. 114, 334-338, 1993)に記載の方法を参考とした。すなわち、凍結乾燥した脳に無水ヒドラジンを添加し、100℃で10時間加熱して複合糖質から糖鎖を切り出した。分解液のヒドラジンを完全に除去した後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で残渣を溶解し、無水酢酸を添加して室温下で15分間放置した(N-アセチル化反応)。この反応液を、イオン交換樹脂を用いて脱塩し、エバポレータで減圧濃縮した(試料Aとする)。次いで、トリフルオロ酢酸を4N(規定)となるように添加し、100℃で3時間加水分解後、再び無水酢酸を用いてN-アセチル化した後、エバポレータで減圧濃縮して反応溶媒を除去した(試料Bとする)。

【0031】

試料A、Bに含まれるNAG含量について、ABEE(4-アミノ安息香酸エチルエステル)糖組成分析キット(株式会社ホーネンコーポレーション製)による標識後、ホーネンパックC18カラム(株式会社ホーネンコーポレーション製)を用いて分析した。HPLC条件を以下に示す。

- ・HPLCカラム: ホーネンパックC18カラム(75mm×4.6mm I.D.)
- ・溶媒A: 0.2Mホウ酸カリウム緩衝液(pH8.9)/アセトニトリル(93/7)
- ・溶媒B: 0.02%トリフルオロ酢酸/アセトニトリル(50/50)
- ・プログラム: 溶媒Aで50分間の分析後、溶媒Bに切り替えて5分間洗浄。再び溶媒Aに切り替えて平衡化する。
- ・流速: 1mL/min
- ・カラム温度: 30℃
- ・検出器: 蛍光(Ex. 305nm, Em. 360nm)

試料Aに含まれるNAGを遊離型NAG、試料BのNAG量から試料AのNAG量を差し引いた値を結合型NAGとした。A、B、C群のマウス脳におけるNAG含量を図3に示した。なお、NAGの含量は $\mu\text{mol/g}$ 脳湿質量として表示した。

【0032】

図3から、遊離型及び結合型NAGの含量について、A群とB群との間では、大きな違いは認められないことが分かる。一方、NAG含有飼料を与えたC群の遊離型NAG量は、 $0.572\mu\text{mol/g}$ 脳湿質量であり、B群($0.094\mu\text{mol/g}$ 脳湿質量)と比較して6.1倍に増加していることが分かる。また、C群の結合型NAG量は、 $0.557\mu\text{mol/g}$ 脳湿質量であり、B群($0.242\mu\text{mol/g}$ 脳湿質量)と比較して2.3倍に増加していることが分かる。

【0033】

すなわち、経口摂取したNAGは腸管から吸収され、マウス脳組織の遊離型NAGのみならず、糖タンパク質や糖脂質に結合した結合型NAG量にも影響していることが明らかとなった。以上の結果から、記憶学習障害改善作用発現のためには、遊離型NAGを含めて、糖タンパク質に結合するNAGの存在が重要であることが示唆された。

【0034】

【発明の効果】

以上説明したように本発明の記憶学習能改善剤は、グルコサミン又はその塩、及びN-アセチルグルコサミンから選ばれた少なくとも1種を有効成分として含む経口摂取用の組成物からなるので副作用の心配がなく、手軽に摂取することができ、痴呆症における記憶・学習能障害を効果的に改善することができる。更に、グルコサミンやN-アセチルグルコサミンの有する様々な生理効果も期待することができる。

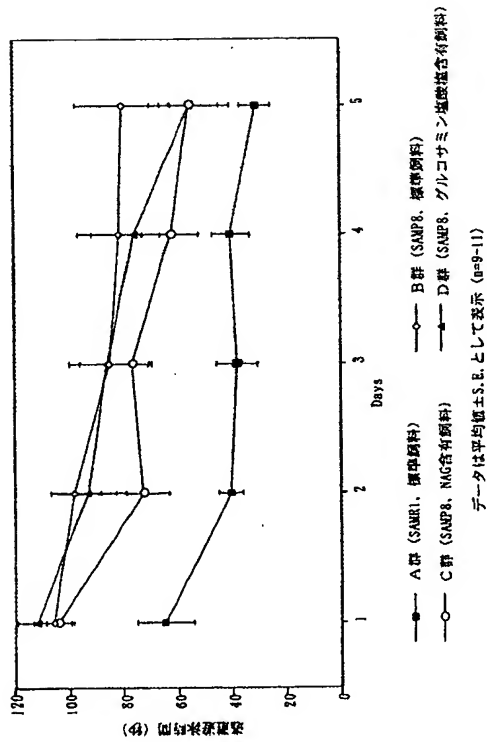
【図面の簡単な説明】

【図1】モリス水迷路による逃避遊泳時間を測定した結果を示す図である。

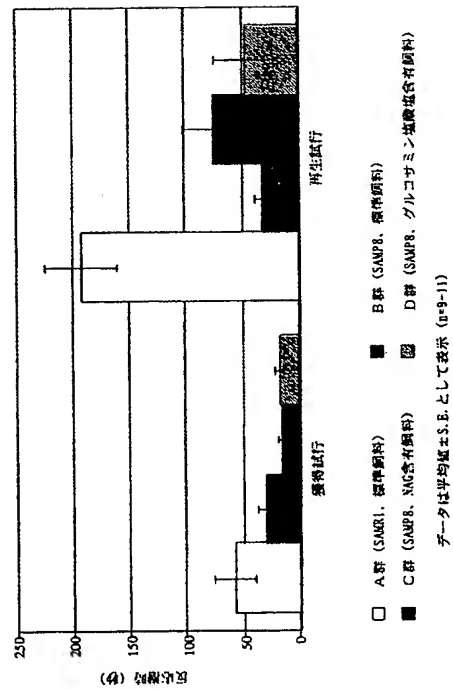
【図2】ステップス型受動的回避反応装置による反応潜時測定した結果を示す図である。

【図3】実施例1及び2で用いたA～C群のマウス脳における遊離型及び結合型NAGの含量を調べた結果を示す図である。

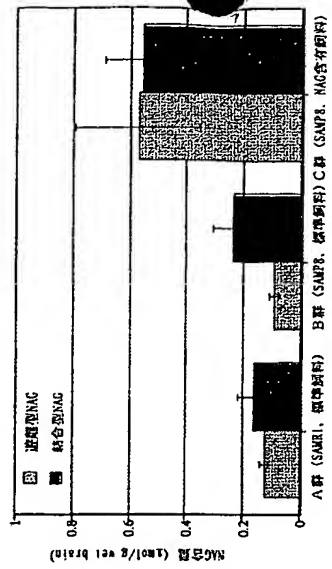
【図1】



【図2】



【 図 3 】



データは平均値±S.E.として表示 (n=3)

フロントページの続き

(51)Int. Cl.

F I

デーマコード (参考)

A 6 1 K 35/78
A 6 1 P 25/28
// A 2 3 L 1/30

A 6 1 K 35/78 B
A 6 1 P 25/28
A 2 3 L 1/30 B
A 2 3 L 1/30 Z

F ターム(参考) 4C057 BB01 BB02 CC01 CC03 CC04

4C086 AA02 BA09 DA34 MA01 MA02 MA03 MA04 MA52 NA14 ZA15
ZA16

4C088 AB02 AC05 BA08 MA02 MA04 MA52 NA14 ZA15 ZA16

4C206 AA02 DA05 GA13 GA28 KA01 MA01 MA02 MA03 MA04 MA13
MA24 MA28 MA72 NA14 ZA15 ZA16

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USP 10)